

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/018895

International filing date: 17 December 2004 (17.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2003-419346
Filing date: 17 December 2003 (17.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 17 February 2005 (17.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

20.12.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 1 2 月 1 7 日
Date of Application:

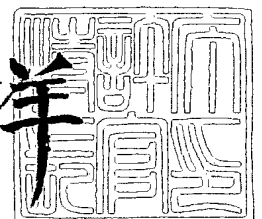
出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 4 1 9 3 4 6
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 4 1 9 3 4 6]

出 願 人 本 田 亜 希
Applicant(s): 鈴 木 孝 治
 独 立 行 政 法 人 科 学 技 術 振 興 機 構

2 0 0 5 年 2 月 3 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川 洋



【書類名】 特許願
【整理番号】 03889
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 G01N 33/00
【発明者】
 【住所又は居所】 神奈川県横浜市港北区日吉本町 3 - 1 6 - 1 1 ル・グランヴェー
 ル I I A 2 0 2
 【氏名】 本田 亜希
【発明者】
 【住所又は居所】 神奈川県横浜市西区みなとみらい 4 - 1 0 - 3 - W 2 7 0 6
 【氏名】 鈴木 孝治
【特許出願人】
 【持分】 3/8
 【住所又は居所】 神奈川県横浜市港北区日吉本町 3 - 1 6 - 1 1 ル・グランヴェー
 ル I I A 2 0 2
 【氏名又は名称】 本田 亜希
【特許出願人】
 【持分】 1/8
 【識別番号】 592187165
 【氏名又は名称】 鈴木 孝治
【特許出願人】
 【持分】 4/8
 【識別番号】 503360115
 【氏名又は名称】 独立行政法人 科学技術振興機構
【代理人】
 【識別番号】 100088546
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 谷川 英次郎
 【電話番号】 03-3238-9182
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 053235
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

環境中の生物由来アレルゲンの測定方法において、該アレルゲンのプロテアーゼ活性を測定することにより前記生物由来のアレルゲンを測定することを特徴とする測定方法。

【請求項 2】

前記アレルゲンがダニ若しくはダニ由来物、又は花粉である請求項 1 又は 2 記載の方法。

【請求項 3】

前記花粉がスギ花粉である請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

大気中、室内空気中、床、壁、窓、窓枠、敷物、寝具類、繊維製品、家具類、粉塵又はハウスダスト中のアレルゲンを測定する請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

酵素活性測定に用いられる、該酵素の基質が、酵素反応の結果、蛍光の発光又は吸光度の変化をもたらす基質である請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

被測定物中のアレルゲンを、前処理を行なうことなく前記酵素の基質と接触させる請求項 1 ないし 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記基質が、支持体に担持され、被測定物を、該支持体と接触させる請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

前記支持体が多孔性支持体である請求項 6 記載の方法。

【請求項 9】

環境中の生物由来アレルゲンの測定器具であって、多孔性支持体中に、前記アレルゲンが有するプロテアーゼ活性の測定に用いられる該プロテアーゼの基質が担持されて成り、該基質が、酵素反応の結果、蛍光の発光又は吸光度の変化をもたらす基質である、環境中のアレルゲン測定用器具。

【請求項 10】

前記アレルゲンがダニ若しくはダニ由来物、又は花粉である請求項 9 記載の器具。

【請求項 11】

環境中の生物由来アレルゲンの測定装置であって、請求項 9 又は 10 記載の器具と、前記多孔性担体の蛍光又は吸光度の変化を測定する光学的測定手段とを具備する、測定装置。

【請求項 12】

前記器具に、被測定物を導く手段をさらに含む請求項 11 記載の測定装置。

【請求項 13】

環境中の生物由来アレルゲンの測定装置であって、前記アレルゲンが有するプロテアーゼ活性の測定に用いられる該プロテアーゼの基質の溶液を収容する容器と、該溶液の蛍光又は吸光度の変化を測定する光学的測定手段とを具備し、前記基質が、酵素反応の結果、蛍光の発光又は吸光度の変化をもたらす基質である、測定装置。

【請求項 14】

前記容器に、被測定物を導く手段をさらに含む請求項 13 記載の測定装置。

【請求項 15】

測定対象であるアレルゲンを、緩衝液容器中に収容された緩衝液に導き、該緩衝液を前記溶液に導く請求項 14 記載の測定装置。

【請求項 16】

環境中の生物由来アレルゲンの測定装置であって、前記アレルゲンが有するプロテアーゼ活性の測定に用いられる該プロテアーゼの基質を収容する容器と、該溶液の蛍光又は吸光度の変化を測定する光学的測定手段とを具備し、前記基質が、酵素反応の結果、蛍光の

発光又は吸光度の変化をもたらす基質である、測定装置。

【請求項 1 7】

測定対象であるアレルゲンを、緩衝液容器中に収容された緩衝液に導き、該緩衝液を前記溶液に導く請求項 1 6 記載の測定装置。

【書類名】明細書

【発明の名称】環境中のアレルゲンの測定方法及び装置

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、環境中のアレルゲンの測定方法及び装置に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

大気中に含まれる花粉や、カーペットや布団等に含まれるダニ等がアレルゲンとなって、花粉症、アトピー、喘息等のアレルギー疾患を引き起こすことは広く知られている。これらのアレルゲンに対してアレルギー体質の人は、これらのアレルゲンとの接触を避けることがアレルギーの発症を避ける上で重要である。

【0 0 0 3】

従来、アレルゲンの測定は、いずれも測定対象となるアレルゲンを対応抗原とする抗体を用いた免疫測定により行なわれていた（下記特許文献1～5）。

【0 0 0 4】

しかしながら、抗体、とりわけ、測定精度を高めるために用いられるモノクローナル抗体は高価である。

【0 0 0 5】

一方、花粉、ダニ、カビ、昆虫由来物質等、環境中に存在するアレルゲンには、プロテアーゼ活性を有するものがあることが知られている。例えば、スギ花粉（非特許文献1）、ブタクサ花粉（非特許文献2）、メスキト－花粉（非特許文献3）、カビの一種である *Aspergillus fumigatus*（非特許文献4）、ワモンゴキブリのアレルゲン（非特許文献5）、ダニ（*Dermatophagoides farinae*=コナヒョウダニ及び *pteronyssinus*=ヤケヒョウダニ）（非特許文献6～非特許文献13）がプロテアーゼ活性を有することが知られている。しかしながら、これらの文献では、プロテアーゼ活性を利用してアレルゲンを測定することについては開示も示唆もなく、また、アレルゲン量との間に定量関係があることについても開示も示唆もない。また、これらの文献では、アレルゲンを抽出、濃縮及び／又は精製してプロテアーゼ活性を測定しており、環境中のアレルゲンをこれらの前処理なしにそのまま簡便に測定できる点については開示も示唆もない。

【0 0 0 6】

【特許文献1】特開平9-87298号公報

【特許文献2】特開平5-207892号公報

【特許文献3】特開平11-14511号公報

【特許文献4】特開2000-35428号公報

【特許文献5】特開平6-34518号公報

【非特許文献1】J Agric Food Chem. 2002 Jun 5;50(12):3540-3. Isolation and characterization of aminopeptidase (Jc-peptidase) from Japanese cedar pollen (*Cryptomeria japonica*). Noguchi Y, Nagata H, Koganei H, Kodera Y, Hiroto M, Nishimura H, Inada Y, Matsushima A.

【非特許文献2】Phytochemistry. 1998 Feb;47(4):593-8. Ragweed pollen proteolytic enzymes: possible roles in allergies and asthma. Bagarozzi DA Jr, Travis J.

【非特許文献3】Am J Respir Cell Mol Biol. 1995 Apr;12(4):441-8. Isolation and properties of an angiotensin II-cleaving peptidase from mesquite pollen. Matheson N, Schmidt J, Travis J.

【非特許文献4】J Investig Allergol Clin Immunol. 2002;12(4):257-62. Serine proteinases with gelatinolytic activity in an *Aspergillus fumigatus* allergenic extract. Iraneta SG, Duschak VG, Rodriguez SM, Alonso A.

【非特許文献5】J Investig Allergol Clin Immunol. 1999 Jul-Aug;9(4):235-40. Proteinase and gelatinolytic activities of house dust mite and cockroach ext

racts. Iraneta SG, Duschak VG, Rodriguez SM, Seoane MA, Albonico JF, Alonso A.

【非特許文献6】 Ando T, Ino Y, Haida M, Honma R, Maeda H, Yamakawa H, Iwaki M, Okudaira H. Isolation of cysteine protease in the crude mite extract, *Dermatophagoides farinae*. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1991;96(3):199-205.

【非特許文献7】 Ando T, Homma R, Ino Y, Ito G, Miyahara A, Yamakawa H, Iwaki M, Okumura Y, Suko M, Haida M, et al. Is a trypsin-like protease of mites a Der f III allergen? *Arerugi*. 1992 Jun;41(6):704-7.

【非特許文献8】 Ando T, Homma R, Ino Y, Ito G, Miyahara A, Yanagihara T, Kimura H, Ikeda S, Yamakawa H, Iwaki M, et al. Trypsin-like protease of mites: purification and characterization of trypsin-like protease from mite faecal extract *Dermatophagoides farinae*. Relationship between trypsin-like protease and Der f III. *Clin Exp Allergy*. 1993 Sep;23(9):777-84.

【非特許文献9】 King C, Simpson RJ, Moritz RL, Reed GE, Thompson PJ, Stewart GA. The isolation and characterization of a novel collagenolytic serine protease allergen (Der p 9) from the dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J Allergy Clin Immunol*. 1996 Oct;98(4):739-47.

【非特許文献10】 Schulz O, Sewell HF, Shakib F. Related Articles, Links A sensitive fluorescent assay for measuring the cysteine protease activity of Der p 1, a major allergen from the dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Mol Pathol*. 1998 Aug;51(4):222-4.

【非特許文献11】 Yasueda H, Mita H, Akiyama K, Shida T, Ando T, Sugiyama S, Yamakawa H. Allergens from *Dermatophagoides* mites with chymotryptic activity. *Clin Exp Allergy*. 1993 May;23(5):384-90.

【非特許文献12】 Heymann PW, Chapman MD, Aalberse RC, Fox JW, Platts-Mills TA. Antigenic and structural analysis of group II allergens (Der f II and Der p II) from house dust mites (*Dermatophagoides* spp). *J Allergy Clin Immunol*. 1989 Jun;83(6):1055-67.

【非特許文献13】 Stewart GA, Ward LD, Simpson RJ, Thompson PJ. Related Articles, Links The group III allergen from the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* is a trypsin-like enzyme. *Immunology*. 1992 Jan;75(1):29-35.

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の目的は、抗アレルギー抗体を用いることなく、簡便に環境中のアレルギーを測定することが可能な、アレルギーの測定方法並びにそのための器具及び装置を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本願発明者らは、鋭意研究の結果、ダニや花粉等の生物由来アレルギーが有するプロテアーゼ活性を測定することにより、アレルギーの抽出や濃縮等の前処理を行なわなくても、環境中の生物由来アレルギーを簡便に測定できることを見出し、本発明を完成した。

【0009】

すなわち、本発明は、環境中の生物由来アレルギーの測定方法において、該アレルギーのプロテアーゼ活性を測定することにより前記生物由来のアレルギーを測定することの特徴とする測定方法を提供する。また、本発明は、環境中の生物由来アレルギーの測定器具であって、支持体に、前記アレルギーが有するプロテアーゼ活性の測定に用いられる該プロテアーゼの基質が担持されて成り、該基質が、酵素反応の結果、蛍光の発光又は吸光度の変化をもたらす基質である、環境中のアレルギー測定用器具を提供する。さらに、本発

明は、環境中の生物由来アレルゲンの測定装置であって、前記アレルゲンが有するプロテアーゼ活性の測定に用いられる該プロテアーゼの基質又は基質溶液を収容する容器と、該溶液の蛍光又は吸光度の変化を測定する光学的測定手段とを具備し、前記基質が、酵素反応の結果、蛍光の発光又は吸光度の変化をもたらす基質である、測定装置を提供する。

【発明の効果】

【0010】

本発明により、抗アレルゲン抗体を用いることなく、環境中の生物由来アレルゲンを簡便に測定することが可能なアレルゲンの測定方法並びにそのための器具及び装置が初めて提供された。本発明の方法は、抗アレルゲン抗体を用いないので安価に行うことができる。また、本発明の方法は、アレルゲンの前処理を行わなくても実施可能であるため、極めて簡便であり、熟練を要することなく行うことができる。また、本発明の生物由来アレルゲン測定用の器具及び装置は、構造が単純で、携帯可能であるため、各家庭や学校その他、アレルゲンを測定したいその場でアレルゲンの測定を簡便に行うことができる。従って、本発明は、アトピーや花粉症のようなアレルギー疾患の発症予防に大いに貢献するものと期待される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

本発明の方法の測定対象となるものは、環境中の生物由来アレルゲンである。ここで、「環境中」とは、大気中及び室内空気中並びに室内空気中へのアレルゲンの供給源となり得る、床、壁、窓、窓枠、敷物（カーペット、絨毯、たたみ、マット、ござ等）、寝具類（布団、毛布、枕、マットレス等）、衣類等の繊維製品、家具類（椅子、ソファ等）、粉塵、ハウスダスト、河川水、井戸水等の内部及び外部を意味し、飲食品は含まれない（飲用水は含む）。また、生物由来アレルゲンとは、花粉、ダニや昆虫等の虫体、糞、それらの死骸及び破片、カビ及びその孢子等の、生物自体及び生物が生産する物質であって、アレルギーの原因物質となるものである。

【0012】

また、本発明の方法は、アレルゲンのプロテアーゼ活性を測定することによりアレルゲンを測定するものであるから、本発明の方法の測定対象となるものは、プロテアーゼ活性を有するアレルゲンである。好ましい例として、花粉、特にスギ花粉及びダニ（虫体、糞、死骸、破片）を挙げることができるが、これらに限定されるものではなく、カビ類等も対象になり得る。

【0013】

本発明の方法では、上記した環境中の生物由来アレルゲンのプロテアーゼ活性を測定する。環境中の生物由来アレルゲンがプロテアーゼ活性を有すること自体は上記の通り公知であるが、下記実施例において具体的に示されるように、プロテアーゼ活性とアレルゲン量の間に定量関係があり、プロテアーゼ活性を測定することによりアレルゲンを測定することは知られていなかった。さらに、驚くべきことに、下記実施例で具体的に記載するように、環境中の生物由来アレルゲンは、抽出や濃縮、精製等の前処理を何ら行なわなくてもそのままプロテアーゼ活性を測定可能なことが本願発明者らによって見出された。従って、本発明の好ましい態様では、環境中の生物由来アレルゲンをそのまま、又は単に水若しくは緩衝液に溶解若しくは浮遊させるのみで、抽出や精製等の前処理なしに測定され、極めて簡便である。なお、「測定」には定量と検出の両者が包含される。

【0014】

プロテアーゼ活性の測定自体は公知の方法により行うことができる。プロテアーゼ活性の測定方法としては、種々の方法が知られており、例えば、酸変性ヘモグロビンを基質とする方法、カゼインの加水分解により生ずる酸可溶性ペプチドを測定する方法、合成ペプチドN-アセチル-L-フェニルアラニル-3, 5-ジヨード-L-チロシン（APDT）を用い遊離されるジイオード-L-チロシンをニンヒドリン法等により定量する方法、合成ペプチドに酵素が作用して生じるペプチドを高速液体クロマトグラフィーによって測定する方法、4メチルクマリルー7アミド（MCA）の合成ペプチド基質を用いる方法、パラニトロフェニルエ

ステル合成ペプチド基質、パラニトロアニリド合成ペプチド基質を用いる方法、加水分解で生じるアンモニアもしくはカルボン酸を定量する方法、コンゴレッド、アゾ、オルセインなどの色素を結合した基質を用いる方法、放射活性を用いる方法、ペプチドチオエステルを用いる方法、ゼラチンフィルム法などを挙げることができる。これらのうち、酵素活性測定に用いられる、該酵素の基質として、酵素反応の結果、蛍光の発光又は吸光度の変化をもたらす基質を用いることが簡便で好ましい。この場合には、蛍光測定若しくは吸光度測定により、又は蛍光の発生若しくは色の変化を目視観察することにより測定することができる。

【0015】

酵素反応の結果、基質の蛍光特性が変化することによりプロテアーゼ活性を測定できる基質としては、蛍光性物質にオリゴペプチド又はアミノ酸が結合した化合物を挙げることができる。これらは、プロテアーゼ活性によりオリゴペプチド部分又はアミノ酸と他の構造との結合部分が切断されることにより、蛍光特性が変化するものである。このような基質は多数市販されている。これらはペプチド配列として、適当なアミノ酸を1残基から10残基程度までランダムに組み合せた配列を有し、カルボキシ末端、アミノ末端、もしくは配列の中間に、切断され遊離した場合に蛍光を発する物質（例えばMCA: メチルクマリル7アミド、）、もしくは1分子内においては蛍光が消光しており切断された場合に蛍光を発するよう組み合せた2種類の物質（例えばDnp: 2, 4-ジニトロフェニルとMOCac: 7-メトキシクマリンの組合せなど）、もしくは遊離した際に特定波長における吸光値の変化を生じる物質（例えばp-ニトロアニリド、ベンゾイルグリシン、メチルエステル、エチルエステルなど）をアミド結合により含む。これらの基質は末端をサクシニル基、アセチル基、t-ブチロキシカルボニル基などで保護されている場合もある。これらの例としてArg-MC A, Boc-Ala-Gly-Pro-Arg-MCA(Bocはt-ブチロキシカルボニル)、MOCac-Arg-Pro-Lys-Pro-Tyr-Ala-Nva-Trp-Met-Lys(Dnp)-NH₂, Ac-Arg-OMe-HCl, Bz-Gly-Arg(Bzはベンゾイル)等を挙げることができる（いずれも、株式会社ペプチド研究所より市販）が、これらに限定されるものではない。なお、基質は、単独でも組み合わせても用いることができる。

【0016】

なお、アレルゲンの種類により、プロテアーゼの基質特異性が異なるため、測定しようとするアレルゲンのプロテアーゼが反応する基質を選択して用いる。この選択は、単にルーチンな確認試験により行うことができる。ダニ（虫体、糞、死骸、破片）を測定する場合には、例えば、Boc-Val-Leu-Lys-MCA、Met-MCA、Boc-Gln-Ala-Arg-MCA、Boc-Val-Leu-Lys-MCA、Boc-Leu-Gly-Arg-MCA等を好ましく用いることができ、花粉を測定する場合には、例えばBz-DL-Arg-pNA.HCl、Leu-MCA、Z-Arg-pNA、Z-Gly-Arg-pNA、Tyr-MCA等を好ましく用いることができる。また、アレルゲンの種類により、基質特異性が異なることを利用してアレルゲンを分別測定することができる。例えば、下記実施例に具体的に記載されるように、スギ花粉は、Leu-MCAやBz-DL-Arg-pNA.HClを基質として反応するが、Boc-Val-Leu-Lys-MCAとは反応しない。一方、ダニ抗原はBoc-Val-Leu-Lys-MCAを基質として反応する。従って、スギ花粉を測定する場合には、Leu-MCAやBz-DL-Arg-pNA.HClを基質として用い、ダニ抗原を測定する場合には、Boc-Val-Leu-Lys-MCAを用いることにより、スギ花粉とダニ抗原を区別して測定することが可能になる。さらに、プロテアーゼ阻害剤も公知であり、特定のアレルゲンのプロテアーゼ活性を阻害するプロテアーゼ阻害剤を、測定に用いる基質と共存させることにより、当該特定のアレルゲンのプロテアーゼ活性を除外して、対象とするアレルゲンのプロテアーゼ活性を選択的に測定することもできる。プロテアーゼ阻害剤の例としては、p-メタクリ安息香酸、ジイソプロピルフルオロリン酸、シトルフェニルアラニルクロロメチルケトン、ズブチリシンインヒビター、ロイペプチン、アンチパイン、ペプスタチン、エポキシコハク酸誘導体等を挙げることができる。このように、適切な基質を選択し、必要により、測定から除外したいアレルゲンのプロテアーゼに対する阻害剤を共存させることにより、測定されるアレルゲンの種類をかなり絞り込むことが可能になる。

【0017】

基質、好ましくは上記した、蛍光特性又は吸光度の変化をもたらす基質は、溶液の状態でも用いることもできるし、基質を支持体に担持して用いることもできる。溶液の場合、溶媒としては水及び水系緩衝液を好ましく用いることができる。支持体としては、担持する基質の量を多くできる多孔性支持体を好ましく用いることができ、多孔性支持体としては、アガロースゲル、ポリアクリルアミドゲル、シリカゲル等のゲルや、ガラス繊維等から成るろ紙、合成樹脂から成る多孔性フィルム等を挙げることができる。基質溶液を用いる場合、溶液中の基質濃度は、用いる基質の種類や、予測されるアレルゲンの量の範囲等に応じて適宜設定されるが、通常、 $10\mu\text{M}$ ~ 50mM 程度、好ましくは $100\mu\text{M}$ ~ 10mM 程度程度である。また、基質を支持体に担持させる場合も、用いる基質の種類や、予測されるアレルゲンの量の範囲等に応じて適宜設定されるが、支持体表面に塗布する場合は、通常、 1cm^2 当り 1nmol ~ 100nmol 程度、支持体に含浸させる場合は、通常、 $0.1\mu\text{mol}$ ~ $100\mu\text{mol}$ 程度である。基質溶液を用いる場合は、大気中や室内空気中のアレルゲンの測定や、粉塵、ハウスダスト等、溶液に懸濁可能な固体に付着又は含まれるアレルゲンの測定に適している。もっとも、電気掃除機で集められるゴミを溶液に懸濁して測定することもできるので、敷物等を先ず電気掃除機で掃除し、回収したゴミを溶液に懸濁して測定することにより、床、壁、窓、窓枠、敷物（カーペット、絨毯、たたみ、マット、ござ等）、寝具類（布団、毛布、枕、マットレス等）、衣類等の繊維製品、家具類（椅子、ソファ等）に付着又は含まれるアレルゲンの測定にも利用することができる。基質を支持体に担持して用いる場合には、大気中や室内空気中のアレルゲンの測定に加え、床、壁、窓、窓枠、敷物、寝具類、衣類等の繊維製品、家具類、粉塵、ハウスダスト等の固体に付着又は含まれるアレルゲンの測定に適している。基質を支持体に担持させた場合、携帯や保管に便利で、測定も簡便に行うことができ、各家庭や学校等での使用に特に適している。

【0018】

測定は、基質溶液を用いる場合には、溶液に大気や室内空気を接触させ、あるいは、粉塵、ハウスダスト、電気掃除機で回収したゴミ等を溶液に懸濁して、蛍光や吸光度を測定装置で測定するか、目視観察により測定することができる。支持体上に担持した基質を用いる場合には、支持体を、床、壁、窓、窓枠、敷物、寝具類、衣類等の繊維製品、家具類等に直接接触させ、又は、これらを粘着シートと接触させ、その粘着シートを支持体に接触させ、支持体上の蛍光や色の変化を測定装置で測定するか、目視により測定することができる。

【0019】

以下、必要により図面に基づいて、本発明の測定方法に適した器具及び装置の好ましい例並びにそれらの使用方法について説明する。

【0020】

最も単純な測定器具は、上記したように、支持体に基質を担持させたものであり、支持体としては、シート状のゲルやろ紙等が好ましい。このアレルゲン測定用シートは、床、壁、窓、窓枠、敷物、寝具類、衣類等の繊維製品、家具類等に直接接触させ、又は、これらを粘着シートと接触させ、その粘着シートをアレルゲン測定用シートに接触させ、アレルゲン測定シート上の蛍光や色の変化を目視により観察する。あるいは、シート上に自由落下する大気中又は室内空気中のアレルゲンを同様に測定することも可能である。蛍光を観察する場合には、その蛍光の励起波長の光を出すランプで照らしながら蛍光を観察する。

【0021】

アレルゲン測定用シートを利用して機械測定を行なうことも可能である。アレルゲン測定シートを利用した測定装置の1例を図1に模式的に示す。アレルゲン測定用シート10で、中空の箱状の装置本体12の上方開口部を覆う。装置本体12内には、蛍光の励起光を発する光源14が収容され、光源14でシート10の下表面を照射する。生じた蛍光は、装置本体12内に収容された検出器16で検出し、これに接続されるプロセッサー18で数値化する。ここで、シート10を多孔性シートとし、装置本体12内にポンプ（図示せず）を収容し、ポンプを作動させて装置本体12内を陰圧にし、シート10にトラップ

されるアレルゲンの量を増大させてもよい。この装置を部屋の隅や大気中に置いておき、アレルゲン測定用シート上に自由落下するアレルゲンを測定することができる。この場合には、測定用シートは透明の材料から形成されることが好ましい。あるいは、アレルゲン測定用シートを、床、壁、窓、窓枠、敷物、寝具類、衣類等の繊維製品、家具類等に直接接触させ、又は、これらを粘着シートと接触させ、その粘着シートをアレルゲン測定用シートに接触させた後、図1に示す測定装置の上方開口部を図示のように測定用シートで覆い、上記の通り機械測定してもよい。この場合には、アレルゲンと接触させた表面を下向きにして設置すると、通常、測定される蛍光量が大きくなるので好ましい。なお、この装置では、アレルゲン測定用シートに枠を設けたり、さらには枠に把手を設けたりして装置への取り付けや交換を簡単にすることもできる。

【0022】

また、アレルゲン測定用シートを利用し、さらにポンプを利用した装置として、図2及び図3に模式的に示す装置を挙げることができる。図2に示す装置では、装置本体32内に、アレルゲン測定用シート34が載置される。アレルゲン測定用シート34は、枠を設けたり、さらには枠に把手を設けたりしてカートリッジ化することが好ましく、カートリッジ化したシートをカートリッジホルダーに載置するようにすると、測定用シートの交換を簡便に行なうことが可能となり好ましい。シート34の上方には、検体となる、本体32の外側の空気をシートに導くための吸入管36が配置され、吸入管36には、外部の空気を引き込むためのポンプ38が取り付けられている。吸入管36の外部開口端には、フィルター40が取り付けられ、大きな粉塵が除去される。なお、フィルター40の孔は、アレルゲンが通過できる大きさである必要がある。ポンプ38を起動して外部の空気を吸入管36に吸入し、測定用シート34上に、空気中に含まれるアレルゲンを接触させた後、図1の装置と同様に、光源42から測定用シート34に光を照射し、蛍光又は吸光を検出器44で検出し、プロセッサー46で数値化する。

【0023】

図3に示す測定装置は、図2に示す測定装置とほぼ同じ構成を有しており、対応する部材には図2と同じ参照番号を付してある。図3に示す装置では、光源42を測定用シート34の斜め上方に配置して、測定用シート34を透過する光を検出器44で検出する。この場合には、測定用シート34は透明な材質で形成される。

【0024】

他の例として、上部を開放した容器内に、基質溶液をそのまま、又はスポンジ状のポリマーから成る吸収体等に吸収させた状態で収容したアレルゲン測定用容器を挙げることができる。この場合にも、上記した測定用シートと同様、溶液上に自由落下する大気中又は室内空気中のアレルゲンを目視観察により測定することができる。

【0025】

このようなアレルゲン測定用容器を利用したアレルゲン測定装置の1例を図4に示す。装置本体20内には、基質溶液24を収容した、透明なアレルゲン測定用容器22が収容されている。光源26からの光を溶液24に当て、吸光度を検出器28で測定し、プロセッサー30で数値化する。あるいは、光源26から蛍光の励起光を溶液24に当て、蛍光を検出器28で測定し、プロセッサー30で数値化する。

【0026】

アレルゲン測定用容器とポンプを利用した測定装置の1例を図5に模式的に示す。装置本体48内には、基質溶液52を収容したアレルゲン測定用容器50が載置される。測定用容器50は、管53を介して緩衝液を含む容器54と接続され、また、測定用容器50には、ポンプ56が取り付けられている。緩衝液容器54の内部にはフィルター58が取り付けられ、大きなゴミが測定用容器50に入らないようになっている。緩衝液容器54内の緩衝液は、図示しないスターラーで攪拌しても良い。緩衝液容器54の上部には、吸入管60が取り付けられ、ポンプ62を起動することにより、装置外部の空気が緩衝液容器54に導かれる。緩衝液容器54内の緩衝液に入ったアレルゲンは、ポンプ56を起動することにより、管53を介して測定用容器50に導かれ、緩衝液と共に基質溶液52に

添加される。光源 64 から基質溶液 52 に光を照射し、透過光又は蛍光を検出器 66 で検出し、プロセッサ 68 で数値化する。あるいは、蛍光の場合には、光源 64 からの光の方向と直行する方向に発光される蛍光を検出器 70 で検出してプロセッサ 72 で数値化することもできる。なお、この装置では、測定用容器 50 に基質溶液を収容しておいてもよいが、容器の底部に粉末の基質を付着させておいても良い。この場合、緩衝液容器 54 からの緩衝液によりその場で基質溶液が作製される。

【0027】

緩衝液を用いた他の測定装置の例を図 6 に示す。装置本体 74 には、底部に基質 76 を載置した容器 78 が載置される。基質 76 は、支持体に担持させてアレルゲン測定用シートとし、このシートを容器 78 の底部に載置しても良いし、容器 78 の底部に粉末状等で付着させておくだけでもよい。容器 78 は、管 80 を介して緩衝液を蓄えた緩衝液容器 82 に連通している。緩衝液容器 82 にはスターラー 84 及びフィルター 86 が設けられている。緩衝液容器 82 は、上方に蓋 90 が開閉自在に設けられている。また、容器 78 にはポンプ 88 が接続されている。使用時には、蓋 90 を開け、所定時間、緩衝液容器 82 を開放する。空気中のアレルゲンが自由落下により、緩衝液内に入る。所定時間経過後、蓋 90 を閉め、スターラー 84 で緩衝液を攪拌した後、ポンプ 88 を起動して緩衝液を容器 78 に導入する。これによりアレルゲンを含む緩衝液が、基質と接触する。光源 90 から容器 78 内の溶液に光を照射し、透過光又は蛍光を検出器 92 で検出し、プロセッサ 94 で測定する。この測定装置によれば、例えば、「午前中、x x スキー場の総花粉量」というような測定を正確に行なうことができる。

【0028】

緩衝液を用い、複数種類の基質を用いて、同時に複数のアレルゲンの測定が可能な装置の 1 例が図 7 に模式的に示されている。装置本体 96 内には、異なる種類の基質 98 a、98 b、98 c をそれぞれ含む容器 100 a、100 b、100 c が載置される。基質 98 a、98 b、98 c は、異なる種類のアレルゲンを測定可能な、異なる種類の基質であることが好ましい。基質は、支持体に担持させてアレルゲン測定用シートとし、このシートを各容器 100 a、100 b、100 c の底部に載置しても良いし、各容器 100 a、100 b、100 c の底部に粉末状等で付着させておくだけでもよい。各容器 100 a、100 b、100 c は、管 102 a、102 b、102 c をそれぞれを介して緩衝液を蓄えた緩衝液容器 104 に連通している。緩衝液容器 104 にはフィルター 106 が設けられている。緩衝液容器 104 の上部には、吸入管 110 が取り付けられ、ポンプ 108 を起動することにより、装置外部の空気が緩衝液容器 104 に導かれ、空気中のアレルゲンが、緩衝液内に混入する。各容器 100 a、100 b、100 c は、また、ポンプ 112 に接続されている。ポンプ 112 を起動することにより、アレルゲンを含む緩衝液が各容器 100 a、100 b、100 c 内に流入し、基質と接触する。各容器 100 a、100 b、100 c を照射する各光源 114 a、114 b、114 c で各容器を照射し、各検出器 116 a、116 b、116 c で蛍光又は吸光を検出し、プロセッサ 118 で数値化する。この装置によれば、複数種類のアレルゲンを同時に測定できる。

【0029】

また、箱型の本体内にポンプを収納し、上方開口部をフィルターで被覆し、本体に排気口を設けたものをアレルゲン収集装置として用いることができる。ポンプを起動してフィルターを介して本体内部に外気を吸入することにより、空気中のアレルゲンをフィルターに吸着させる。次いで、フィルターを基質溶液に漬けることによりアレルゲンを溶液中に放出し、又はフィルターを緩衝液で洗浄し、その洗浄液を基質若しくは基質溶液と混合し測定する。測定は、目視観察により行なうこともできるし、市販の分光光度計を利用して吸光度測定を行なったり、フルオロメーターを用いて蛍光測定すること等により行うことができる。

【0030】

以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

【実施例 1】

【0031】

ダニ抗原の定量

(1) 材料

ダニ凍結虫体 (*Mite dermatophagoides farinae*) (エル・エス・エル社製)

プロテアーゼ基質 (Boc-Val-Leu-Lys-MCA (株式会社ペプチド研究所製))

L-システイン

【0032】

(2) 方法及び結果

ダニ凍結虫体は200 mg/mlにリン酸緩衝液または水に懸濁し、適宜リン酸緩衝液で希釈を行なった。それぞれ180 μ Lに対し100 mMのL-システイン20 μ L (測定対象であるシステインプロテアーゼの-SH基を還元状態にするために従来から一般的に添加されている)を加え37℃で10分間培養を行なった。ここから40 μ Lを取出し、10 mMにジメチルスルフォキシド(DMSO)で溶解した基質10 μ Lと混合し、さらに37℃で30分間培養した。反応を終了する為に10%酢酸溶液を100 μ L加えた。プレートリーダーを用いて波長355 nmで励起を行ない、460 nmにおける蛍光強度を測定した。

【0033】

虫体濃度と蛍光強度の関係を図8に示す。この曲線はダニの個数をxとし、蛍光強度をyとすると以下の様に近似される。

$$y = ((A-D)/(1+(x/C)^B)) + D$$

$$A=3.4402, B=1.456, C=70590.62, D=0.08607963$$

このとき相関係数は0.996であった。この曲線から、本実施例の方法により、少なくとも、ダニ虫体濃度が約2 mg/mlないし200 mg/mlの範囲でダニ抗原の定量が可能であることがわかる。

【実施例 2】

【0034】

ハウスダスト中のダニ抗原の定量

(1) 材料

ハウスダスト (掃除機回収粉塵)

プロテアーゼ基質 (Boc-Val-Leu-Lys-MCA (株式会社ペプチド研究所製))

【0035】

(2) 方法及び結果

掃除機回収粉塵は10mg/mlにリン酸緩衝液に懸濁し孔径1 μ mのろ紙で濾過を行なったろ液を用いた。ろ液は3倍ずつ6段階に希釈を行なった。それぞれ40 μ Lに対し10mMにDMSOで溶解した基質2 μ Lと混合し、37℃で30分間培養した。プレートリーダーを用いて波長355 nmで励起を行ない、460 nmにおける蛍光強度を測定した。

【0036】

ハウスダストの濃度(mg/ml)と蛍光強度の関係を図9に示す。この曲線はハウスダストの濃度(mg/ml)をxとし、蛍光強度をyとすると以下の様に近似される。

$$y = ((A-D)/(1+(x/C)^B)) + D$$

$$A=1203.294, B=1.374, C=6.672, D=44792.84$$

この曲線から、本実施例の方法により、少なくとも、ハウスダスト濃度が約1mg/mlないし10 mg/mlの範囲でハウスダスト中のダニ抗原の定量が可能であることがわかる。

【実施例 3】

【0037】

床及びカーペット上のダニ抗原の可視化

(1) 材料

プロテアーゼ基質 (Boc-Val-Leu-Lys-MCA (株式会社ペプチド研究所製))

L-システイン

アガロース、粘着シート、直径9 cmプラスチックプレート

試料

カーペット、窓枠周辺、床コーナーの粉塵（いずれも住宅室内において採取）

【0038】

(2) 方法及び結果

リン酸緩衝液18mlに対しアガロースを0.4 g加え、電子レンジで加熱溶解し、60℃まで溶液を冷却し、100mMのL-システインを2 ml加えた。これをプラスチックプレートに注いで冷まし固めた。ここに10mMにDMSOで溶解した基質20 μ Lをコーンラージ棒を用いて塗布した。室内のカーペット、窓枠周辺、床コーナーに数センチ角の粘着シートを貼付し、粉塵を採取した（図10）。これらと、対照となる粉塵を採取していない粘着シートを上述のアガロースプレートに貼り付け、貼付直後及び37℃で30分間培養を行なったものをCCDカメラ励起波長365 nmで励起し得られた画像をUVイルミネーターで観察を行った。結果を図11及び図12に示す。いずれも目視においては無数の粉塵が採取されているにも関わらず、検出されているのはその内の一部であり、またその量はカーペット及び床コーナーにおいて多量、窓枠周辺においては少量が検出されていることが分る。窓枠周辺の粉塵は砂等、外気に由来するものが多く含まれていると考えられ、ダニ抗原を少量のみしか含まない結果は妥当である。この実施例においてはシステインプロテアーゼの定量に基づいたものであり、検出されているものは主にダニ抗原である。

【実施例4】

【0039】

蛍光顕微鏡観察によるダニの観察

(1) 材料

プロテアーゼ基質（Boc-Val-Leu-Lys-MCA（株式会社ペプチド研究所製））
L-システイン

試料

ダニ凍結虫体（Mite dermatophagoides farinae）（エル・エス・エル社製）

【0040】

(2) 方法及び結果

微量のダニ凍結虫体または掃除機回収粉塵を観察用シャーレに採取し、36 μ Lのリン酸緩衝液と4 μ LのL-システイン、及び5 μ lの基質を加えたものを顕微鏡において位相差像または蛍光像（励起：Arレーザー、CFP用フィルター）を得た。結果を図13. 1及び13. 2に示す。位相差像（図13. 1）と蛍光像（図13. 2）の比較によるとダニ虫体のうちの特に消化器官において蛍光強度が高い。このことは本方法によりDerfIを含むアレルゲンが特異的に検出されていることを示唆する。

【実施例5】

【0041】

ハウスダスト中のダニ抗原の可視化

(1) 材料

プロテアーゼ基質（Boc-Val-Leu-Lys-MCA（株式会社ペプチド研究所製））
L-システイン

試料

掃除機回収粉塵

【0042】

(2) 方法及び結果

掃除機回収粉塵を観察用シャーレに採取し、36 μ Lのリン酸緩衝液と4 μ LのL-システイン、及び5 μ Lの基質を加えたものを顕微鏡において位相差像または蛍光像（励起：Arレーザー、CFP用フィルター）を得た。図14. 1及び14. 2に示す。相差像（図14. 1）と蛍光像（図14. 2）の比較からは掃除機回収粉塵中の全てではなく、一部に

おいてのみ蛍光が検出されている。主にダニ抗原が検出されているものと考えられる。

【実施例 6】

【0043】

ハウスダスト中のダニ抗原の目視及び吸光度による定量

(1) 材料

ハウスダスト (掃除機回収粉塵)

プロテアーゼ基質 (Bz-DL-Arg-pNA.HCl) (株式会社ペプチド研究所製)

【0044】

(2) 方法及び結果

掃除機回収粉塵は10mg/mlにリン酸緩衝液に懸濁し孔径1 μ mのろ紙で濾過を行なったろ液を用いた。ろ液は3倍ずつ6段階に希釈を行なった。180 μ Lに対し10mMにDMSOで溶解した基質20 μ Lと混合し、37 $^{\circ}$ Cで一晩培養した。発色したプレートを下方からスキャナーにて取込んだところ、試料濃度が高いウェルにおいて目視にて黄色い発色が観察された。また、プレートリーダーによる405 nmにおける吸光度測定を行なった。結果を図15に示す。この曲線は掃除機回収ゴミ量をxとし、吸光度をyとすると以下の様に近似することができる。

$$y = ((A-D)/(1+(x/C)^B)) + D$$

$$A=0.061, B=1.398, C=5.059, D=0.575$$

この曲線から、本実施例の方法により、少なくとも、ハウスダスト濃度が約1mg/mlないし10 mg/mlの範囲でハウスダスト中のダニ抗原の定量が可能であることがわかる。

【実施例 7】

【0045】

スギ花粉の測定

(1) 材料

スギ花粉 (Cedar Pollen-Cj Japanese Cedar) (エル・エス・エル社製)

プロテアーゼ基質としてLeu-MCA及びBoc-Val-Leu-Lys-MCA (いずれも株式会社ペプチド研究所製)

【0046】

(2) 方法及び結果

スギ花粉は1 mg/mlにリン酸緩衝液に懸濁し、適宜リン酸緩衝液で希釈を行なった。それぞれ45 μ Lに対し10mMにDMSOで溶解した基質5 μ Lと混合し、37 $^{\circ}$ Cで15分間培養した。プレートリーダーを用いて波長355nmで励起を行ない、460nmにおける蛍光強度を測定した。

【0047】

結果を図16に示す。スギ花粉量をx (μ g/ml)、Leu-MCAを用いた場合の蛍光強度をyとすると、以下のような近似式が成立つ

$$y = ((A-D)/(1+(x/C)^B)) + D$$

$$A=3943.221, B=1.374, C=169.224, D=4939.37$$

またこのとき相関係数は0.997であった。

この曲線から、本実施例の方法により、少なくとも、スギ花粉濃度が約50 μ g/mlないし1000 μ g/mlの範囲でスギ花粉の定量が可能であることがわかる。

【0048】

さらに図16から明らかな様にBoc-Val-Leu-Lys-MCAを用いた場合は蛍光はスギ花粉量に依存することはない。このことより生物由来アレルゲンの種類によって、基質特異性は異なり、基質を使い分けることで特異的に生物由来アレルゲンの検出を行なえることがわかる。

【実施例 8】

【0049】

スギ花粉抽出物の定量

(1) 材料

スギ花粉抽出物 (Cedar Pollen Extrac-Cj) (エル・エス・エル社製)
プロテアーゼ基質として Leu-MCA 及び Boc-Val-Leu-Lys-MCA (いずれも株式会社ペプチド研究所製)

【0050】

(2) 方法及び結果

スギ花粉抽出物はスギ花粉を 0.125 M NaHCO₃ (pH8) で 16 時間攪拌し、さらに軽くホモジェナイズしたものの遠心上澄画分である。これを 666 µg/ml に 5 mM ホウ酸緩衝液 (pH8.0) 0.9% NaCl に懸濁し、これをさらに適宜リン酸緩衝液で希釈を行なった。試料それぞれ 45 µL に対し 10 mM に DMSO で溶解した基質 5 µL と混合し、37℃ で 15 分間培養した。プレートリーダーを用いて波長 355 nm で励起を行ない、460 nm における蛍光強度を測定した。

【0051】

結果を図 17 に示す。スギ花粉抽出物量を x (µg/ml) Leu-MCA を用いた場合の蛍光強度を y とすると、以下のような近似式が成立つ。

$$y = ((A-D)/(1+(x/C)^B)) + D$$

$$A=3134.98, B=0.932, C=371.278, D=25315.2$$

【0052】

このとき相関係数は 1 であり、検出限界も花粉そのものを用いるよりも抽出物を用いた方が向上することが示される。また実施例 7 と同様に、Boc-Val-Leu-Lys-MCA を用いた場合には蛍光強度はスギ花粉抽出物量に依存することではなく、花粉が物理的に破碎されても特異性をもって検出が可能であることが示される。

【実施例 9】

【0053】

ダニ抗原の定量

(1) 材料

ダニ抽出物 Df (Mite dermatophagoides farinae) (リン酸緩衝液で抽出し、可溶画分を凍結乾燥したもの) (エル・エス・エル社製)
プロテアーゼ基質 (Met-MCA, Boc-Gln-Ala-Arg-MCA, Boc-Val-Leu-Lys-MCA, Bz-Arg-MCA, Glt-Ala-Ala-Phe-MCA (Glt は グルタリル) (いずれも株式会社ペプチド研究所製))

【0054】

(2) 方法及び結果

ダニ 1 mg/ml にリン酸緩衝液または水に懸濁し、適宜リン酸緩衝液で希釈を行なった。それぞれ 50 µL に対し 10 mM にジメチルスルフォキシド (DMSO) で溶解した基質 5 µL と混合し、さらに室温で一晩培養した。プレートリーダーを用いて波長 355 nm で励起を行ない、460 nm における蛍光強度を測定した。

【0055】

ダニ抽出物濃度と蛍光強度の関係を図 18 に示す。これらの曲線から、本実施例の方法により、Met-MCA, Boc-Gln-Ala-Arg-MCA, Boc-Val-Leu-Lys-MCA のような基質を用いることにより有効にダニ抗原を測定することができることが示された。また Bz-Arg-MCA, Glt-Ala-Ala-Phe-MCA のような基質はダニ抗原によってほとんど切断されず、基質が非特異的に切断されているのではないことが示された。

【図面の簡単な説明】

【0056】

【図 1】 本発明の測定装置の好ましい 1 例を模式的に示す図である。

【図 2】 本発明の測定装置の他の好ましい 1 例を模式的に示す図である。

【図 3】 本発明の測定装置のさらに他の好ましい 1 例を模式的に示す図である。

【図 4】 本発明の測定装置のさらに他の好ましい 1 例を模式的に示す図である。

【図 5】 本発明の測定装置のさらに他の好ましい 1 例を模式的に示す図である。

【図 6】 本発明の測定装置のさらに他の好ましい 1 例を模式的に示す図である。

【図 7】 本発明の測定装置のさらに他の好ましい 1 例を模式的に示す図である。

【図 8】 本発明の実施例において測定した、ダニ虫体濃度と蛍光強度との関係を示す

図である。

【図 9】本発明の実施例において測定した、ハウスダスト濃度と蛍光強度との関係を示す図である。

【図 10】本発明の実施例において、カーペット、窓枠、床コーナー及びコントロール（被測定物なし）に粘着シートを貼り付け、剥がした状態を示す写真である。

【図 11】図 11 に示す各粘着シートを本発明のアレルゲン測定用シート（ゲル）に転写した直後の蛍光像を示す写真である。

【図 12】図 11 に示す各粘着シートを本発明のアレルゲン測定用シート（ゲル）に転写した直後の蛍光像を示す写真である。

【図 13. 1】本発明の実施例において、ダニ虫体にプロテアーゼ基質を添加したものの位相差顕微鏡像を示す。

【図 13. 2】本発明の実施例において、ダニ虫体にプロテアーゼ基質を添加したものの蛍光顕微鏡像を示す。

【図 14. 1】本発明の実施例において、ハウスダストにプロテアーゼ基質を添加したものの位相差顕微鏡像を示す。

【図 14. 2】本発明の実施例において、ハウスダストにプロテアーゼ基質を添加したものの蛍光顕微鏡像を示す。

【図 15】本発明の実施例において測定した、掃除機回収粉塵濃度と吸光度との関係を示す図である。

【図 16】本発明の実施例において 2 種類の基質を用いて測定した、スギ花粉量と蛍光強度との関係を示す図である。

【図 17】本発明の実施例において 2 種類の基質を用いて測定した、スギ花粉抽出物量と蛍光強度との関係を示す図である。

【図 18】本発明の実施例において 5 種類の基質を用いて測定した、ダニ抽出物量と蛍光強度との関係を示す図である。

【符号の説明】

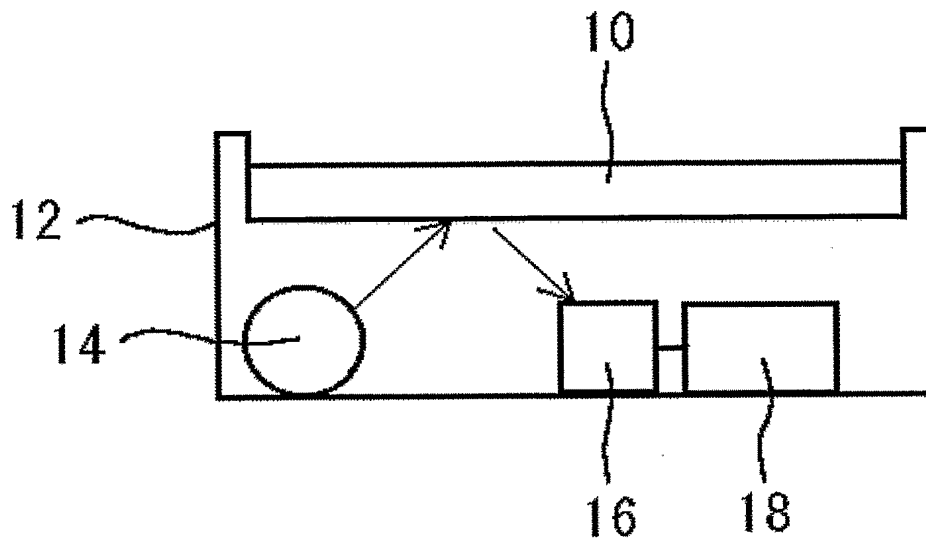
【0057】

- 10：アレルゲン測定用シート
- 12：装置本体
- 14：光源
- 16：検出器
- 18：プロセッサ
- 20：装置本体
- 22：アレルゲン測定用容器
- 24：基質溶液
- 26：光源
- 28：検出器
- 30：プロセッサ
- 32：装置本体
- 34：アレルゲン測定用シート
- 36：吸入管
- 38：ポンプ
- 40：フィルター
- 42：光源
- 44：検出器
- 46：プロセッサ
- 48：装置本体
- 50：アレルゲン測定用容器
- 52：基質溶液
- 53：管

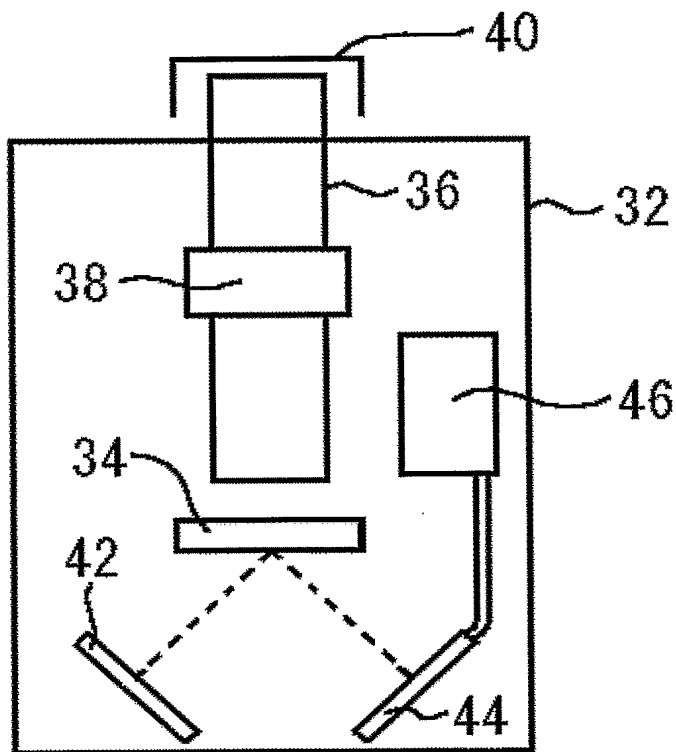
5 4 : 容器
5 6 : ポンプ
5 8 : フィルター
6 0 : 吸入管
6 2 : ポンプ
6 4 : 光源
6 6 : 検出器
6 8 : プロセッサー
7 0 : 検出器
7 2 : プロセッサー
7 4 : 装置本体
7 6 : 基質
7 8 : 容器
8 0 : 管
8 2 : 緩衝液容器
8 4 : スターラー
8 6 : フィルター
8 8 : ポンプ
9 0 : 蓋
9 2 : 検出器
9 4 : プロセッサー
9 6 : 装置本体
9 8 a、9 8 b、9 8 c : 基質
1 0 0 a、1 0 0 b、1 0 0 c : 容器
1 0 2 a、1 0 2 b、1 0 2 c : 管
1 0 4 : 緩衝液容器
1 0 6 : フィルター
1 0 8 : ポンプ
1 1 0 : 吸入管
1 1 2 : ポンプ
1 1 4 a、1 1 4 b、1 1 4 c : 光源
1 1 6 a、1 1 6 b、1 1 6 c : 検出器
1 1 8 : プロセッサー

【書類名】 図面

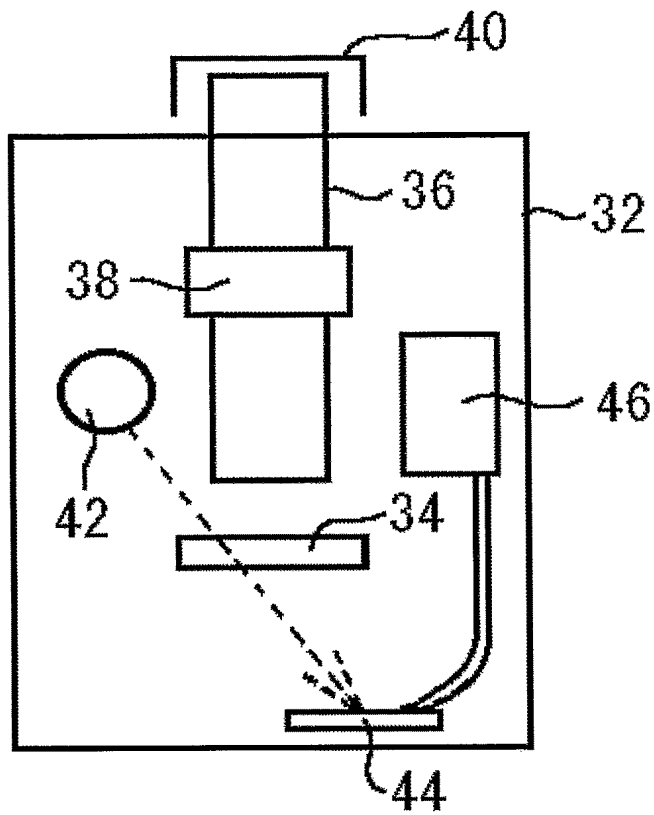
【図 1】



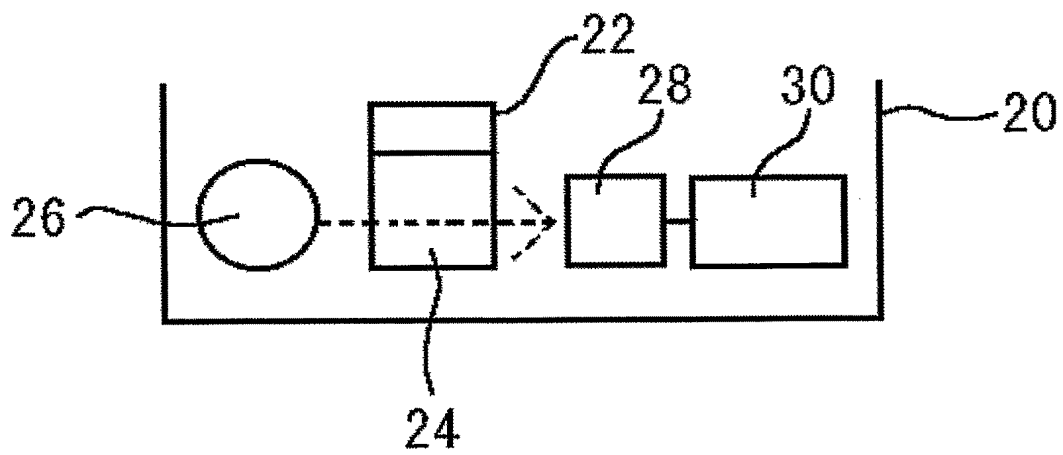
【図 2】



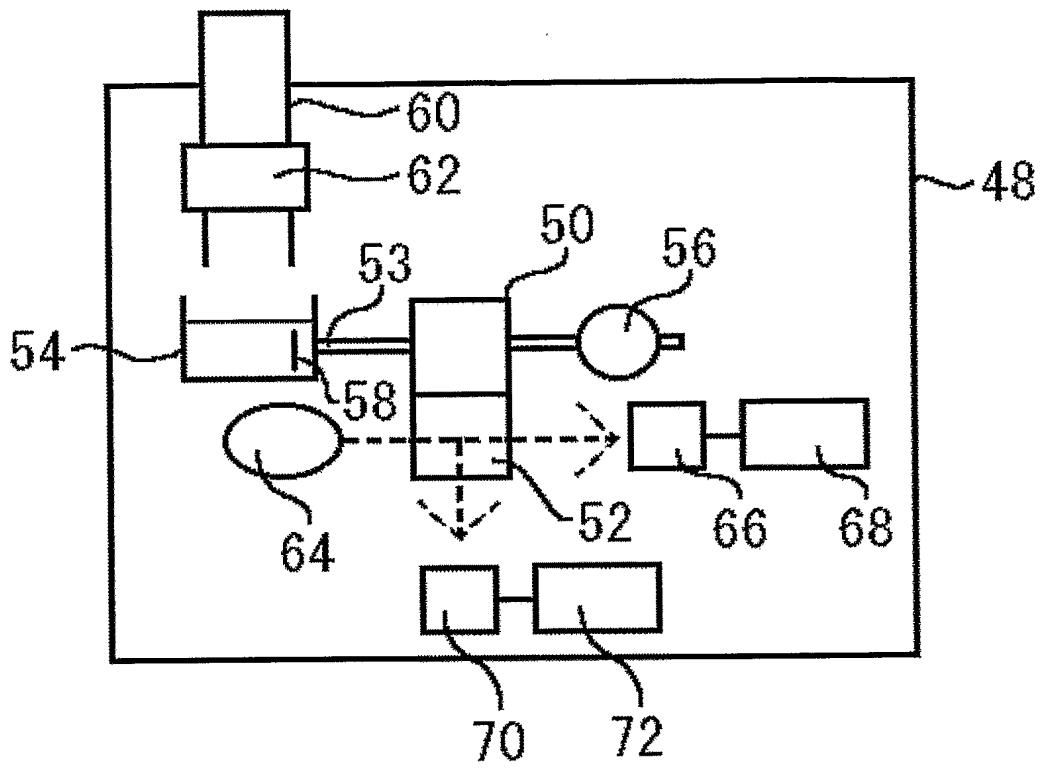
【図 3】



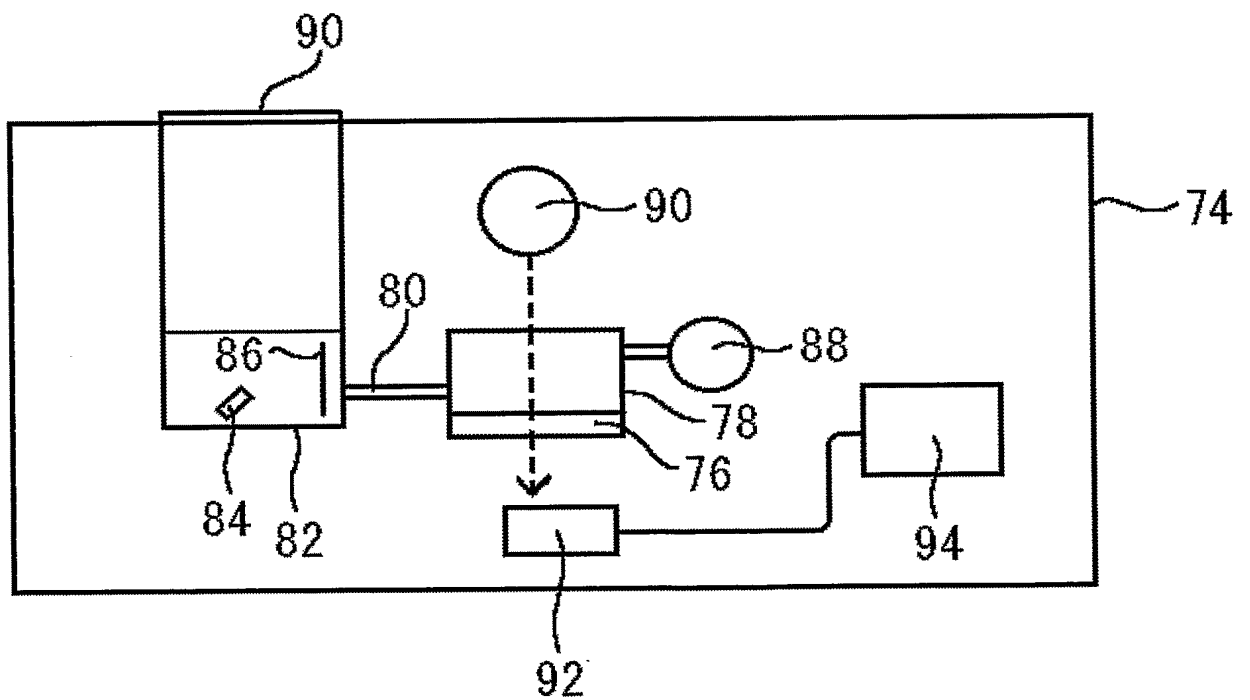
【図 4】



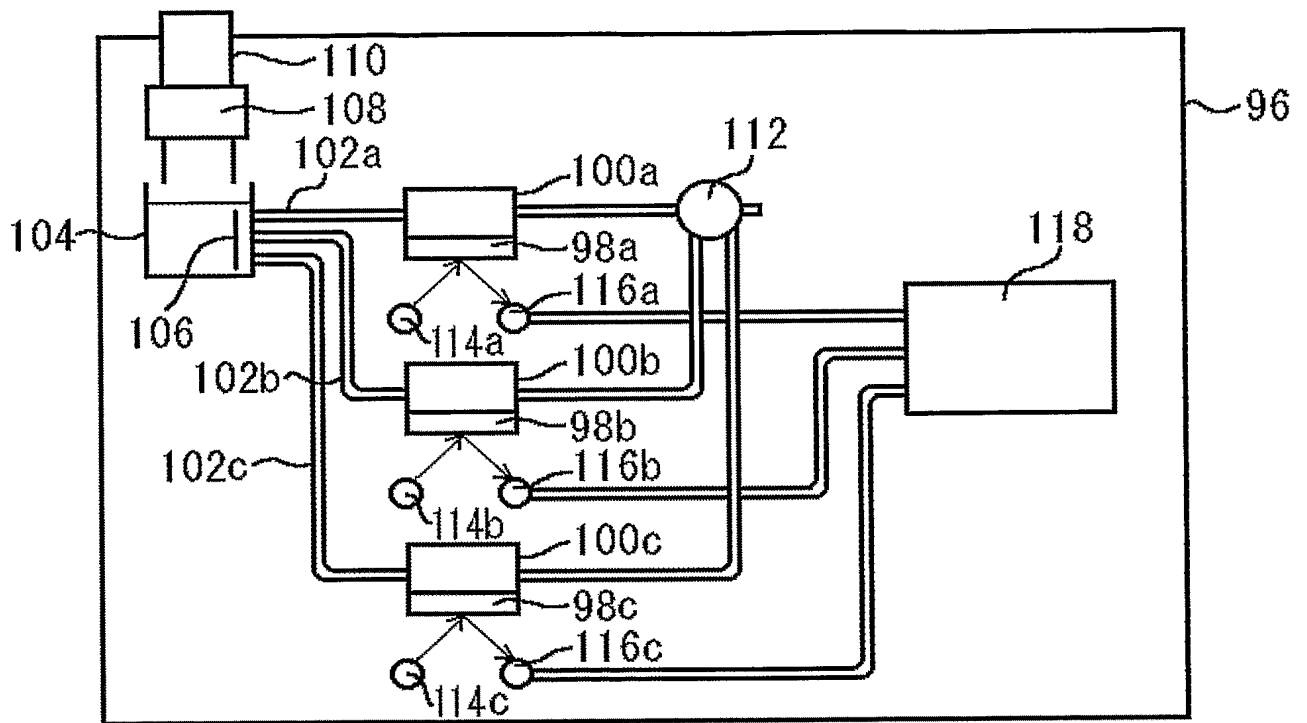
【図 5】



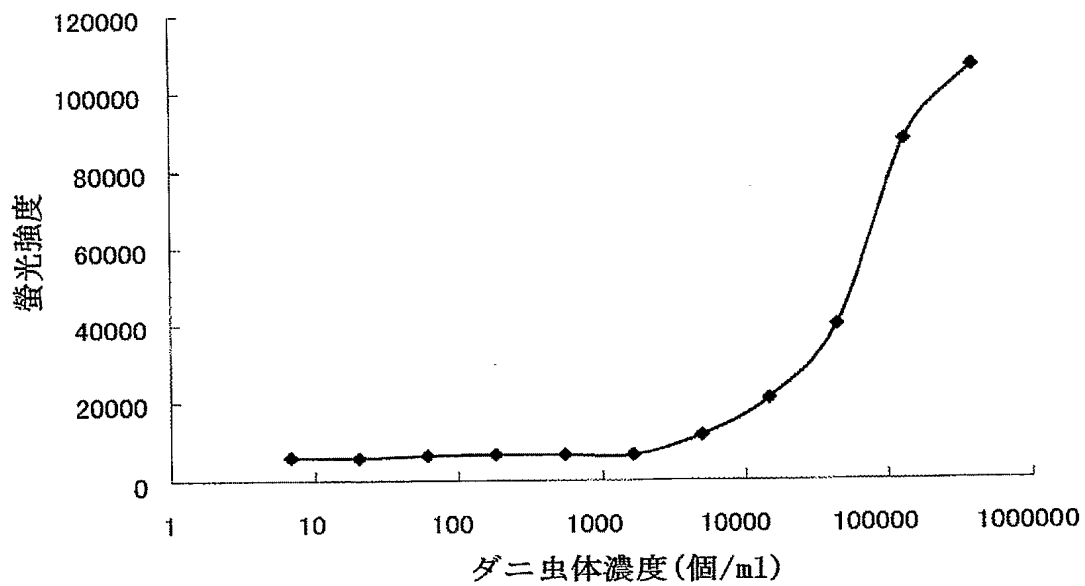
【図 6】



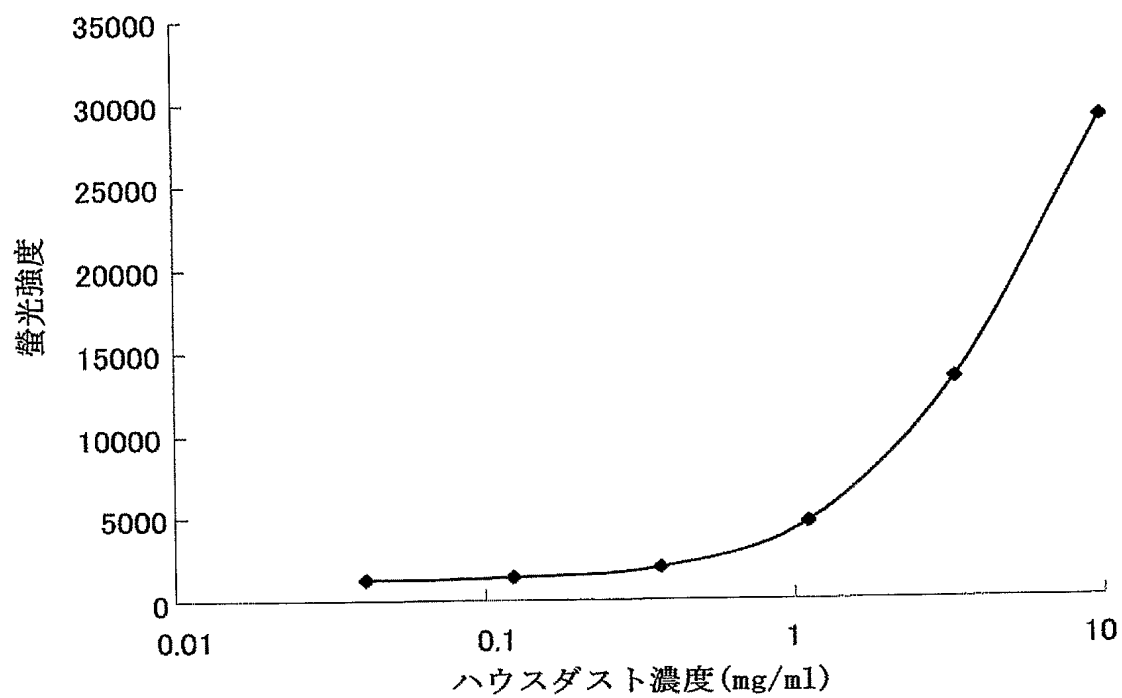
【図 7】



【図 8】



【図 9】



【図 10】

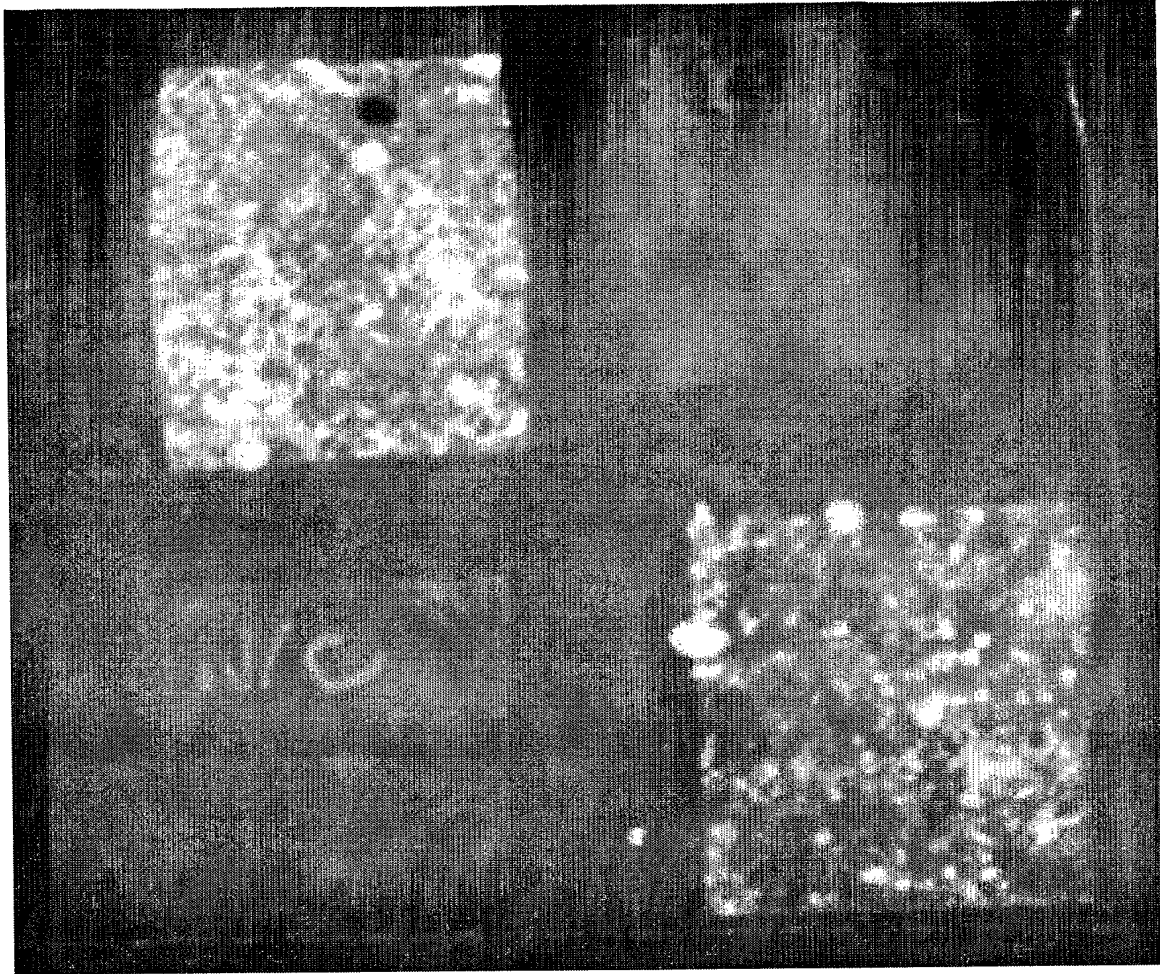
カーハート

まじわく

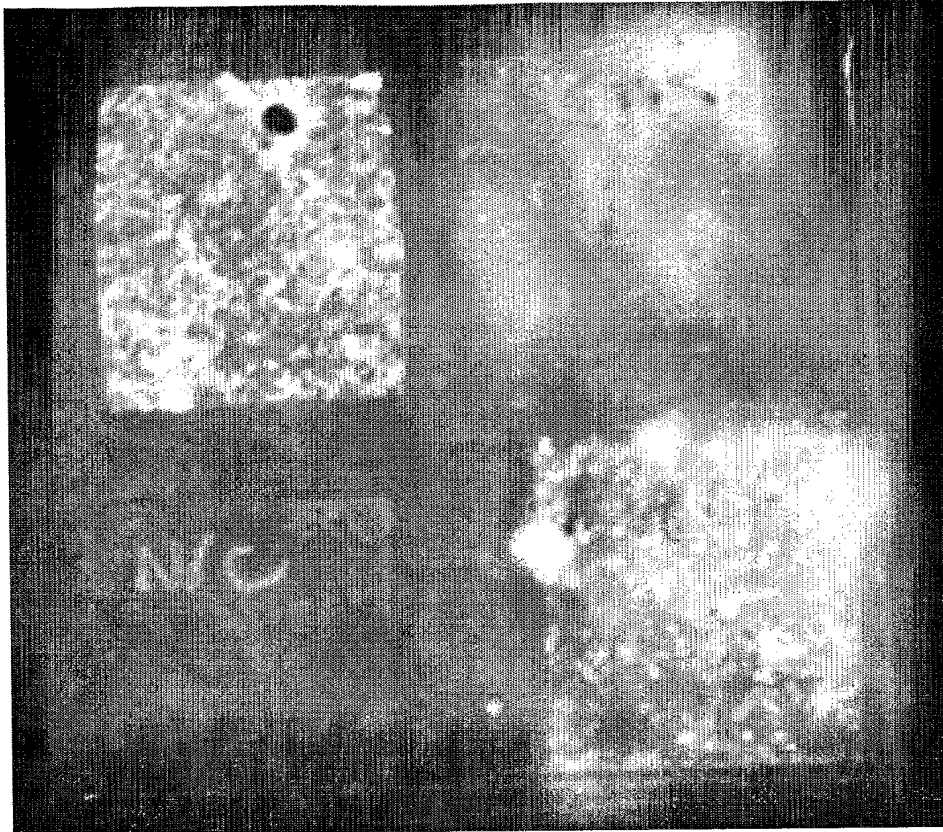
N/C

床コ-ト-

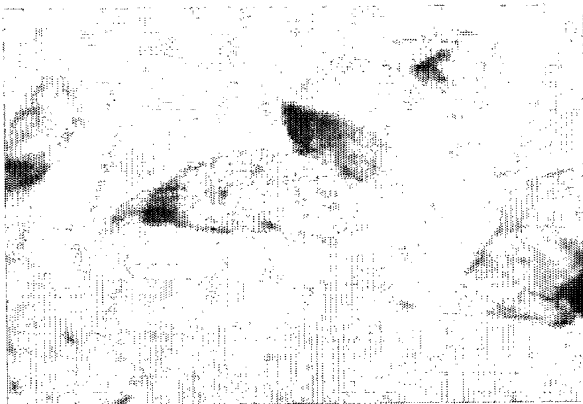
【図 11】



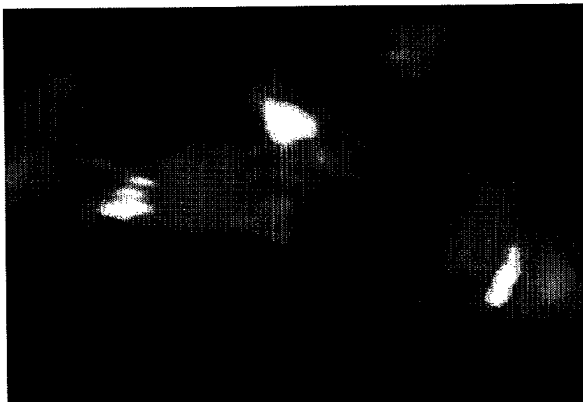
【図 12】



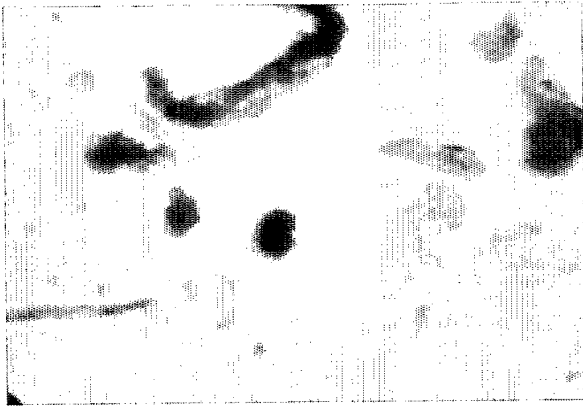
【図 13. 1】



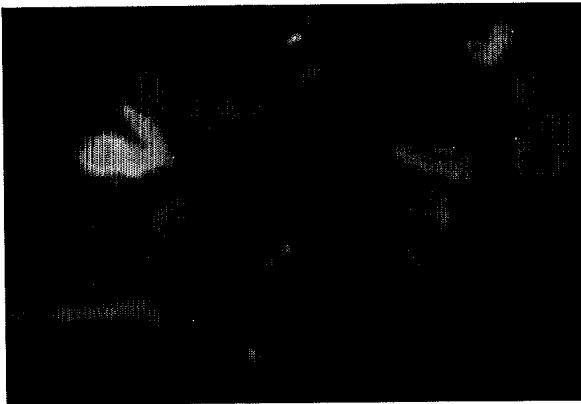
【図 13. 2】



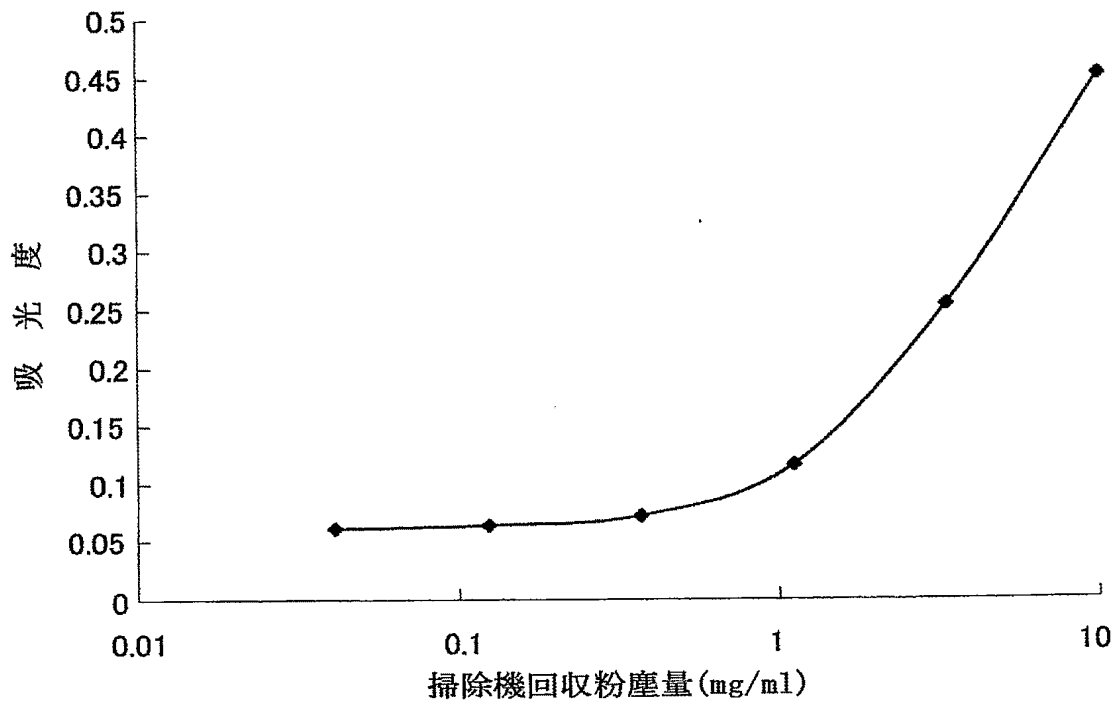
【図 14. 1】



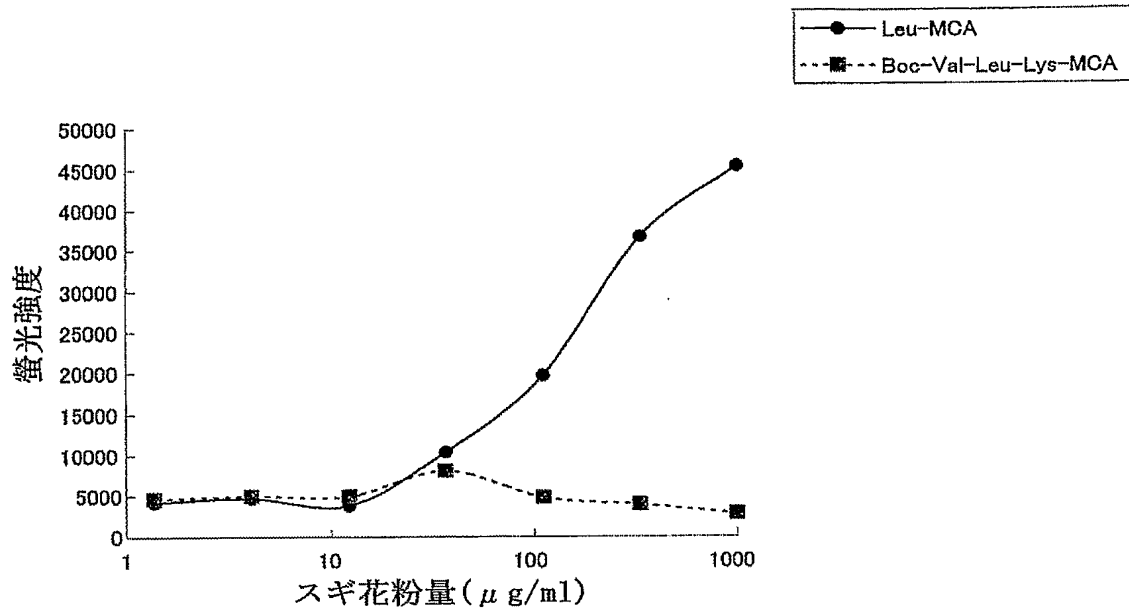
【図 14. 2】



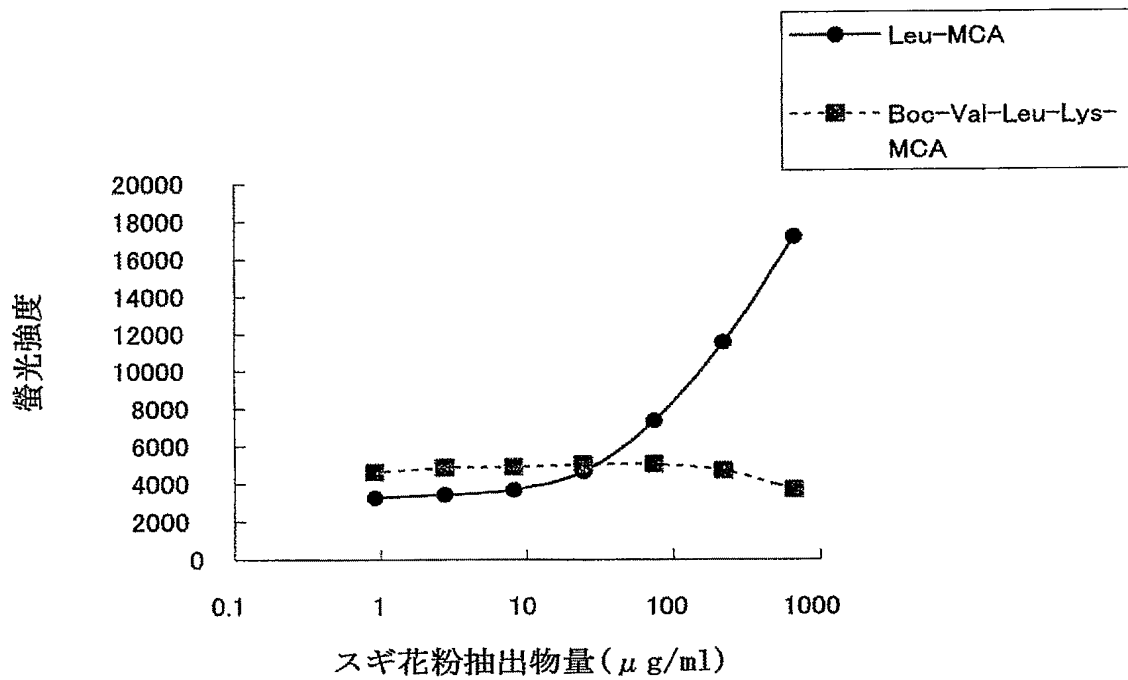
【図 15】



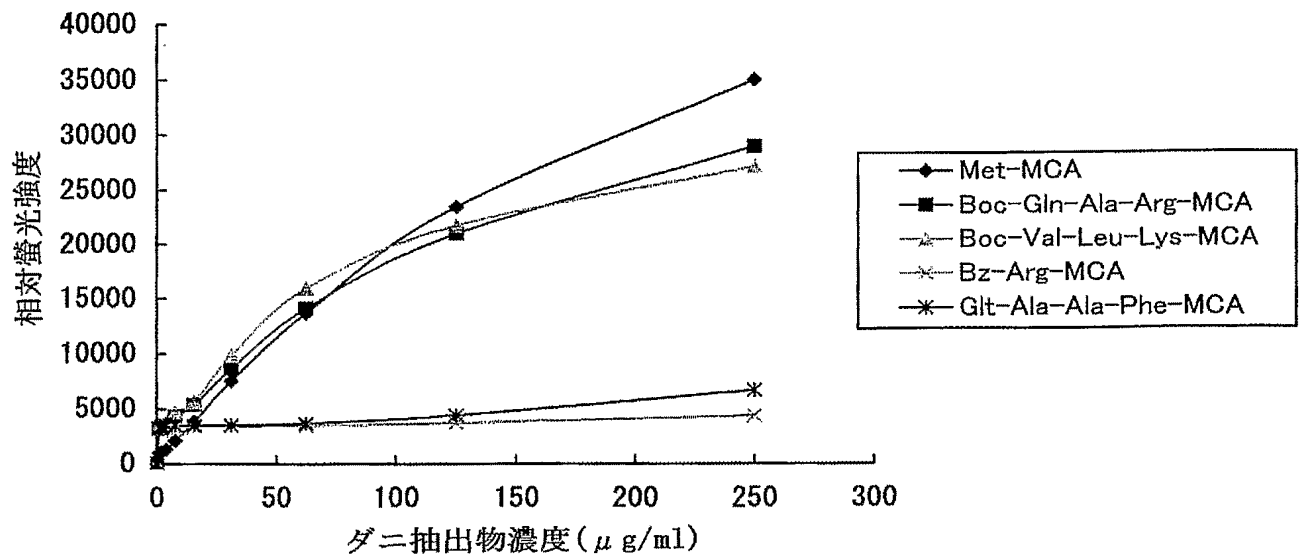
【図 16】



【図 17】



【図 18】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 抗アレルギー抗体を用いることなく、簡便に環境中のアレルギーを測定することが可能な、アレルギーの測定方法並びにそのための器具及び装置を提供すること。

【解決手段】 環境中の生物由来アレルギーの測定方法では、該アレルギーのプロテアーゼ活性を測定することにより前記生物由来のアレルギーを測定する。環境中の生物由来アレルギーの測定器具は、支持体に、前記アレルギーが有するプロテアーゼ活性の測定に用いられる該プロテアーゼの基質が担持されて成り、該基質が、酵素反応の結果、蛍光の発光又は吸光度の変化をもたらす基質である。

【選択図】 図 1

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 3 - 4 1 9 3 4 6
受付番号	5 0 3 0 2 0 7 5 9 5 8
書類名	特許願
担当官	小松 清 1 9 0 5
作成日	平成 1 5 年 1 2 月 2 4 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】	平成 1 5 年 1 2 月 1 7 日
-------	----------------------

特願 2 0 0 3 - 4 1 9 3 4 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [5 9 2 1 8 7 1 6 5]

1. 変更年月日 1 9 9 2 年 8 月 3 1 日

[変更理由] 新規登録

住 所 神奈川県川崎市幸区小倉 1 番地 1 A - 7 0 5

氏 名 鈴木 孝治

特願 2003-419346

出願人履歴情報

識別番号 [503360115]

1. 変更年月日 2003年10月 1日
[変更理由] 新規登録
住 所 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
氏 名 独立行政法人 科学技術振興機構
2. 変更年月日 2004年 4月 1日
[変更理由] 名称変更
住 所 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
氏 名 独立行政法人科学技術振興機構

特願 2 0 0 3 - 4 1 9 3 4 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [5 0 3 4 6 4 8 6 0]

1. 変更年月日 2 0 0 3 年 1 2 月 1 7 日

[変更理由] 新規登録

住 所 神奈川県横浜市港北区日吉本町 3 - 1 6 - 1 1 ル・グランヴ

ェール I I A 2 0 2

氏 名 本田 亜希